利用叶绿体基因组数据解析锦葵科梧桐亚科的系统位置和属间关系

黎若竹[1,2]，蔡杰[3]，杨俊波[3]，张志荣[3]，李德铢[3]，郁文彬[1,4,5*]

（1. 中国科学院西双版纳热带植物园 综合保护中心，云南 勐腊 666303；2. 中国科学院大学，北京 100049; 3. 中国科学院昆明植物研究所 中国西南野生生物种质资源库，昆明 650201； 4. 中国科学院核心植物园保护生物学协同中心，云南 勐腊 666303；5. 中国科学院东南亚生物多样性研究中心，云南 勐腊 666303）

摘 要：分子系统学研究将传统梧桐科与锦葵科、木棉科和椴树科合并为广义锦葵科，并进一步分为 9 个亚科。然而，9 个亚科之间的关系尚未完全明确，且梧桐亚科内的属间关系也未得到解决。为了明确梧桐亚科在锦葵科中的系统发育位置，厘清梧桐亚科内部属间系统发育关系，该研究对锦葵科 8 个亚科进行取样，共选取 55 个样本，基于叶绿体基因组数据，采用最大似然法和贝叶斯分析构建系统发育树。结果表明：（1）广义锦葵科中，刺果藤亚科和扁担杆亚科组成 Byttneriina 分支，Malvadendrina 分支中山芝麻亚科为其他亚科的姐妹群，随后分出梧桐亚科（WCG、LSC 和 SSC 矩阵构成的数据集），以及 Malvatheca 分支（木棉亚科和锦葵亚科）与非洲芙蓉亚科-椴树亚科的姐妹关系；（2）在梧桐亚科中，可乐果属分支（*Cola* clade）是独立一支，随后是酒瓶树属分支（*Brachychiton* clade）与苹婆属（*Sterculia* clade）+ 银叶树属分支（*Heritiera* clade）形成姐妹关系（WCG、LSC 和 CDS 矩阵）；（3）在可乐果属分支（*Cola* clade）中，可乐果属等为梧桐属（含闭果桐属）和胖大海属+舟翅桐属的姐妹群。该研究基于叶绿基因组数据基本澄清了广义锦葵科的亚科系统关系以及梧桐亚科内各属关系，系统发育树框架基本明晰，但梧桐亚科在 Malvadendrina 分支的位置和酒瓶树属在梧桐亚科的位置，以及梧桐属的概念及范围仍需进一步研究，尤其是结合核基因组数据进行分析。

关键词：梧桐亚科，梧桐属，锦葵科，系统发育基因组，叶绿体基因组

中图分类号：Q949　　　　**文献标识码：**A

收稿日期：2021-03-24

基金项目：中国科学院重大科技基础设施开放研究项目（2017-LSF-GBOWS-02）；云南省万人计划“青年拔尖人才”[Supported by the Large-scale Scientific Facilities of the Chinese Academy of Sciences (No. 2017-LSF-GBOWS-02); Ten Thousand Talents Program of Yunnan for Top-notch Young Talents.]。

作者简介：黎若竹（1996- ），硕士研究生，主要研究方向为保护生物学，（E-mail）liruozhu@xtbg.ac.cn。

***通讯作者：**郁文彬，博士，研究员，研究方向为植物系统演化，（E-mail）yuwenbin@xtbg.ac.cn。

Plastid phylogenomics resolving phylogenetic placement and genera phylogeny of Sterculioideae (Malvaceae s. l.)

LI Ruozhu[1,2], CAI Jie[3], YANG Junbo[3], ZHANG Zhirong[3], LI Dezhu[3], YU Wenbin[1,4,5*]

(1. *Center for Integrative Conservation, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences*, Mengla 666303, Yunnan, China; 2. *University of Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100049, China; 3. *The Germplasm Bank of Wild Species, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650201, China; 4. *Center of Conservation Biology, Core Botanical Gardens, Chinese Academy of Sciences*, Mengla 666303, Yunnan China; 5. *Southeast Asia Biodiversity Research Institute, Chinese Academy of Science*, Mengla 666303, Yunnan, China)

Abstract: Phylogenetic analyses supported that four traditionally defined families Sterculiaceae, Tiliaceae, Bombacaece and Malvaceae were subsumed into Malvaceae s.l. and nine subfamilies have been recognized within Malvaceae s.l. However, phylogenetic relationships among the nine subfamilies were not well resolved. Moreover, phylogenetic relationships among genera were also not clear in Sterculioideae. In this study, we reconstructed phylogenetic trees of Malvaceae s.l. based on chloroplast genome sequences from 55 species that representing eight recognized subfamilies for clarifying phylogenetics relationships of subfamilies and Sterculioideae. The results were as follows: (1) Byttnerioideae and Grewioideae formed the Byttneriina clade in Malvaceae s.l. as sister to the Malvadendrina clade which by having Helicteroideae as the first divergent subfamily, followed by Sterculioideae (WCG, LSC and SSC datasets), and the Malvatheca clade (Bombacoideae + Malvoideae) and the clade Dombeyoideae + Tilioideae as sister. (2) The *Cola* clade was the first divergent clade in Sterculioideae, then the *Brachychiton* clade was sister to the clade *Sterculia* + *Heritiera* (WCG, LSC and CDS datasets); (3) In the *Cola* clade, *Cola* + *Octolobus* + *Pterygota* were the first divergent group, then *Firmiana* spp. (including *Hildegardia*) were sister to the clade *Scaphium* + *Pterocymbium*. In this study, plastid phylogenomic analyses have well resolved the phylogenetic framework of subfamilies in Malvaceae s.l., and phylogenetic relationship among genera in Sterculioideae. However, phylogenetic positions of Sterculioideae in the Malvadendrina clade and *Brachychiton* in Sterculioideae, respectively, as well as the concept and circumscription of *Firmiana*, need to confirm and further investigate using nuclear genomic data in the future.

Keywords: Sterculioideae, *Firmiana*, Malvaceae, phylogenomics, chloroplast

传统的梧桐科（Sterculiaceae）由 Ventenat 于 1830 年建立，模式属是苹婆属（*Steculia* L.）。梧桐科隶属于锦葵目（Malvales），是一个多型的科，拥有多样的花部特征和果实类型（徐颂军和徐祥浩, 2012）。由于缺乏关键的识别特征，不同学者在梧桐科的范围和划分上持有不同观点，所包含属种变动很大（Cronquist & Takhtajan, 1992; Takhtajan, 2009; 徐颂军和徐祥浩, 2012）。形态上，梧桐科与同属锦葵目的椴树科（Tiliaceae）、锦葵科（Malvaceae）及木棉科（Bombacaceae）关系近缘，被认为是核心锦葵目（core Malvales）成员。从形态学来

看，这 4 个科的形态特征十分相似，甚至有所重合，因而这几个科的界限也不甚明确（徐颂军和徐祥浩, 2000）。

分子系统学研究结果表明，锦葵目核心四科中唯有锦葵科是单系，其他 3 个科为多系或并系类群（Alverson et al., 1999; Bayer et al., 1999）。由于主要支系之间的形态分化水平不足以支持科级分类，所以 Bayer et al.（1999）和 Alverson et al.（1999）建议将 4 个科合并为 1 个大科，采用 Malvaceae 作为科名，并综合考虑形态特征、生物地理学信息及系统发育结果，将锦葵科内部主要的 9 个分支处理为亚科等级。锦葵科的 9 个亚科分别为木棉亚科（Bombacoideae）、杯萼椴亚科（Brownlowioideae）、刺果藤亚科（Byttnerioideae）、非洲芙蓉亚科（Dombeyoideae）、扁担杆亚科（Grewioideae）、山芝麻亚科（Helicteroideae）、锦葵亚科（Malvoideae）、 梧桐亚科（Sterculioideae）以及椴树亚科（Tilioideae）。刺果藤亚科和扁担杆亚科互为姐妹关系，组成 Byttneriina 分支，与余下 7 个亚科组成的 Malvadendrina 分支互为姐妹关系（Baum et al., 1998; Alverson et al., 1999）。在 Malvadendrina 分支内部，锦葵亚科与木棉亚科聚为一支，并得到良好地支持（BS=82%），这一分支被命名为 Malvatheca（Baum et al., 1998）。9 个亚科的单系性及 Byttneriina 和 Malvadendrina 两大分支在后续的研究中都得到了支持（Nyffeler et al., 2005; Hernandez-Gutierrez & Magallon, 2019; Wang et al., 2021）。在 Malvadendrina 分支内部，最先得到确定的是锦葵亚科和木棉亚科的姐妹关系（Alverson et al., 1999; Baum et al., 2004），其他亚科的系统位置则因取样的多少及使用的基因片段不同而发生变动（Nyffeler et al., 2005; Conover et al., 2019; Hernandez-Gutierrez & Magallon, 2019）。叶绿体基因组较基因片段包含更为丰富的遗传变异信息，如今测序技术日臻完善，测序成本随之降低，叶绿体基因组也被用于解决锦葵科系统发育关系（Wang et al., 2021）。通过对锦葵目的 39 个叶绿体基因组（包括锦葵科 8 个亚科，缺少杯萼椴亚科）划分的不同数据集进行系统发育分析，Wang et al.（2021）确定了山芝麻亚科处在 Malvadendrina 分支基部，为其他亚科的姐妹群，椴树亚科和非洲芙蓉亚科为姐妹关系。然而，梧桐亚科与 Malvatheca 分支，及椴树亚科-非洲芙蓉亚科分支之间的关系尚未得到解决。

基于现有分子系统学证据，传统梧桐科的属主要分散在刺果藤亚科、非洲芙蓉亚科、山芝麻亚科中，另有一属（*Fremontodendron* Coville）被归入木棉亚科，只有原苹婆族（Sterculieae）及蝴蝶树族（Tarritieae）的部分属为梧桐亚科的主要成员（Bayer & Kubitzki, 2003）。新界定的梧桐亚科包含 12～13 属，主要取决于是将 *Argyrodendron* F. Muell.并入银叶树属（*Heritiera* Aiton）还是作为一个独立的属（Bayer & Kubitzki, 2003; Wilkie et al., 2006）。梧桐亚科的单系性得到了分子系统学和形态学证据的共同支持。在形态结构上，梧桐亚科各属以无花瓣的花，花瓣状的萼片，心皮离生，具雌雄蕊柄等共有特征和其他亚科区分开来（Bayer et al., 1999; Bayer & Kubitzki, 2003）。包含梧桐亚科各属的 *ndh*F 基因所构建的系统发育树表明，梧桐亚科内部分为四个分支，即可乐果属分支（*Cola* clade），酒瓶树属分支（*Brachychiton* clade），苹婆属分支（*Sterculia* clade）及银叶树属分支（*Heritiera* clade）（Wilkie et al., 2006）。然而这四个分支之间的关系尚未得到解决，且分支内部属间关系尚不明确，有待进一步探究。

本研究通过对锦葵科各亚科尤其是梧桐亚科进行取样，尽可能多地获取浅层测序数据及叶绿体基因组数据，利用叶绿体基因组数据重建锦葵科及梧桐亚科系统发育关系，试图明确梧桐亚科在锦葵科中的系统发育位置，并厘清梧桐亚科内部属间系统发育关系。

1 材料与方法

1.1 材料采集与数据来源

（1）叶绿体基因组数据的获取：从活植株上采集无病虫害的幼嫩叶片，经硅胶干燥后，用于 DNA 的提取及测序。本研究新测了锦葵科 19 属的 29 种植物的叶绿体基因组数据，并从 NCBI 数据库（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/）下载了 26 个锦葵科及 1 个红木科的叶绿体

基因组数据，共计 56 个样本用于分析。其中，55 个锦葵科样本中代表了 8 个亚科 35 属 55 种，缺少杯萼椴亚科（Bayer & Kubitzki, 2003），涵盖原梧桐科的 26 个属（徐颂军和徐祥浩，2012）。样本具体信息详见表 1。

（2）叶绿体片段数据的来源：为了进一步阐明梧桐属（*Firmiana* Marsili）与闭果桐属（*Hildegardia* Schott & Endl.）之间的关系，在 Wilkie et al. (2006) 的取样基础上，增加了 *mat*K 和 *rbc*L 基因片段进行联合分析。数据主要从 NCBI 数据库中下载，并从本研究选取的叶绿体基因组数据样本中提取相应片段进行补充，详见表 1。

表 1 用于系统发育分析的叶绿体基因组及基因片段凭证信息

Table 1 Accession of chloroplast genome and gene sequences used for studying phylogeny

亚科 Subfamily	物种名 Species	凭证标本或 GenBank 号 Voucher or GenBank accession number
木棉亚科 Bombacoideae	木棉 *Bombax ceiba*	MG569974.1
木棉亚科 Bombacoideae	**美丽异木棉 *Ceiba speciosa***	**黎若竹 ：LRZ1204001 (HITBC)**
刺果藤亚科 Bytterioideae	**昂天莲 *Ambroma augustum***	**王立彦、左常盛、桂魏: SCSB-TBG-055 (KUN)**
刺果藤亚科 Bytterioideae	*Byttneria* sp.	SRR7122070
刺果藤亚科 Bytterioideae	**山麻树 *Commersonia bartramia***	**杨秀森、龙文兴: LWX10145 (KUN)**
刺果藤亚科 Bytterioideae	*Herrania umbratica*	SRR5580908
刺果藤亚科 Bytterioideae	**鹧鸪麻 *Kleinhovia hospita***	**杨秀森、龙文兴: LWX10025 (KUN)**
刺果藤亚科 Bytterioideae	***Melochia villosa***	**N. Zamora: NZ7083 (KUN)**
刺果藤亚科 Bytterioideae	*Seringia elliptica*	SRR8666286
刺果藤亚科 Bytterioideae	可可 *Theobroma cacao*	HQ336404.2
刺果藤亚科 Bytterioideae	*Waltheria virgata*	SRR8666755
刺果藤亚科 Bytterioideae	**瓜楚麻 *Guazuma ulmifolia***	**N. Zamora: NZ6921 (KUN)**
非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae	**田麻 *Corchoropsis crenata***	**易思荣: YiSR312 (KUN)**
非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae	***Dombeya* sp.**	**CPG考察队: 30554 (PE)**
非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae	**火绳树 *Eriolaena spectabilis***	**张挺、蔡杰、刘成、郭永杰: 08CS161 (KUN)**
非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae	*Melhania oblongifolia*	SRR866295
非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae	***Nesogordonia* sp.**	**CPG考察队: 31468 (PE)**
非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae	**平当树 *Paradombeya sinensis***	**张挺、蔡杰: 14CS9043 (KUN)**
非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae	景东翅子树 *Pterospermum kingtungense*	MK962315.1
扁担杆亚科 Grewioideae	海南破布叶 *Grewia chungii*	MN533967.1
扁担杆亚科 Grewioideae	***Sparrmannia* sp.**	**CPG考察队: 30755 (PE)**
山芝麻亚科 Helicteroideae	榴梿 *Durio zibethinus*	MG138151.1
山芝麻亚科 Helicteroideae	**火索麻 *Helicteres isora***	**杨秀森、龙文兴: LWX10021 (KUN)**

山芝麻亚科 Helicteroideae	两广梭罗 *Reevesia thyrsoidea*	NC_041441.1
锦葵亚科 Malvoideae	木槿 *Hibiscus syriacus*	NC_026909.1
锦葵亚科 Malvoideae	野葵 *Malva parviflora*	MK860036.1
梧桐亚科 Sterculioideae	*Brachychiton gregorii*	SRR8666699
梧桐亚科 Sterculioideae	**杨叶酒瓶树 *B. populneus***	**黎若竹: LRZ20200703001 (HITBC)**
梧桐亚科 Sterculioideae	**可乐果 *Cola acuminata* ***	**黎若竹: LRZ20191125001 (HITBC);** Parmentier Ingrid & Mambo Peter: KC628256 (*rbc*L); Kubitzki 93-12 (HBG): AF111759 (*ndh*F)
梧桐亚科 Sterculioideae	**光亮可乐果 *C. nitida* ***	**黎若竹: LRZ20200523002 (HITBC)**
梧桐亚科 Sterculioideae	火桐 *Firmiana colorata*	SRR7121997
梧桐亚科 Sterculioideae	**丹霞梧桐 *F. danxiaensis* ***	**郁文彬: YWB2013144 (KUN)**
梧桐亚科 Sterculioideae	云南梧桐 *F.* major *	NC_037242.1
梧桐亚科 Sterculioideae	马来火桐 *F. malayana* *	P. Wilkie PW164(E): AY795587 (*ndh*F)
梧桐亚科 Sterculioideae	美丽梧桐 *F. pulcherrima* *	MF621982.1
梧桐亚科 Sterculioideae	梧桐 *F. simplex* *	MH671308.1; P. Wilkie PW469 (E): AY795589 (*ndh*F)
梧桐亚科 Sterculioideae	*Heritiera angustata*	MG897126.1
梧桐亚科 Sterculioideae	*H. fomes*	NC_043924.1
梧桐亚科 Sterculioideae	银叶树 *H. littoralis* *	NC_043923.1
梧桐亚科 Sterculioideae	蝴蝶树 *H. parvifolia*	MF997465.1
梧桐亚科 Sterculioideae	*Heritiera* sp.	SRR7122106
梧桐亚科 Sterculioideae	*Hildegardia populifolia**	JX088700 (*mat*K); Cheek 11480 (K): AY795588 (*ndh*F)
梧桐亚科 Sterculioideae	*H. barteri* *	AJ233131 (*rbc*L); Hill 2519 (FTG): AF111754 (*ndh*F) Hill 2519 (FTG): AY321180 (*trn*K)
梧桐亚科 Sterculioideae	奇异八裂桐 *Octolobus spectabilis* *	Frimodt-Moller et al. TZ540 (K): AY795586 (*ndh*F)
梧桐亚科 Sterculioideae	***Pterocymbium javanicum* ***	**林露湘: PTERJA (HITBC)**
梧桐亚科 Sterculioideae	***Pterocymbium* sp.**	**谭运洪、丁洪波: L0981 (HITBC)**
梧桐亚科 Sterculioideae	***P. tinctorium* ***	**林露湘: PTERTI_1(HITBC);**

		P. Wilkie PW125 (E): AY795590 (*ndh*F)
梧桐亚科 Sterculioideae	翅苹婆 *Pterygota alata**	JX856756 (*rbc*L); F. Effendi et al, FRI48106 (E): AY795599 (*ndh*F)
梧桐亚科 Sterculioideae	*Scaphium linearicarpum* *	KR0763: MG910379 (*mat*K); P. Wilkie PW2 (E): AY795592 (*ndh*F)
梧桐亚科 Sterculioideae	**红胖大海 *S. lychnophorum***	**黎若竹: LRZ20200515001 (HITBC)**
		黎若竹: LRZ20200521003 (HITBC);
梧桐亚科 Sterculioideae	**胖大海 *S. macropodum* ***	KR2576: MG895963 (*rbc*L); Lum, S. BT_0070234323: KJ709073 (*mat*K); P. Wilkie PW16 (E): AY795593 (*ndh*F)
梧桐亚科 Sterculioideae	***S. scaphigerum***	**林露湘: SCAPSC (HITBC)**
梧桐亚科 Sterculioideae	**短柄苹婆 *Sterculia brevissima***	**林露湘: XTBGLQM0694 (HITBC)**
梧桐亚科 Sterculioideae	**假苹婆 *S. lanceolata***	**刘成、王苏化、朱迪恩: 12CS4392 (KUN)**
梧桐亚科 Sterculioideae	苹婆 *S. monosperma*	MK659853.1
梧桐亚科 Sterculioideae	***S. nobilis***	**刘成、王苏化、朱迪恩、陈春明: 12CS4417 (KUN)**
梧桐亚科 Sterculioideae	**家麻树 *S. pexa***	**张挺、刘成: 13CS5907 (KUN)**
梧桐亚科 Sterculioideae	**基苹婆 *S. principis***	**蔡杰、刘东升、杨德进: 12CS5370 (KUN)**
梧桐亚科 Sterculioideae	**绒毛苹婆 *S. villosa***	**林露湘, HITBC: XTBGLQM0694**
椴树亚科 Sterculioideae	滇桐 *Craigia yunnanensis*	MN088379.1
椴树亚科 Sterculioideae	紫椴 *Tilia amurensis*	MH169579.1
红木科 Bixaceae	红木 *Bixa orellana*	NC_041550.1

注：表格中字体加粗的为本研究新产生的叶绿体基因组序列，带*的为用于推断可乐果属分支系统发育关系的样本。

Note: The newly generated chloroplast genomes are highlighted in bold, and the samples with * were used to infer the phylogenetic relationships of *Cola* clade.

1.2 DNA 提取及测序

DNA 的提取采用改良 CTAB 法（Doyle JJ & Doyle JL, 1987），从硅胶干燥后的 DNA 分子材料中提取总 DNA。用于文库构建的 DNA 质量要求为总 DNA 含量≥1.5 μg，浓度≥20 ng·$μL^{-1}$。每个样品的总 DNA 为 0.2 μg，通过超声波将 DNA 随机打断成 350 bp 或 500 bp 左右的片段，然后对 DNA 末端进行修饰补齐。接着给每个样品添加标签混合建库，每个物种确保获取 4～5 G 的测序数据。纯化后的 DNA 于 Illumina 测序平台上进行双末端测序，采用的测序策略为 PE150 或 PE250，即单端测序 reads 长度为 150 bp 或 250 bp。由中国科学院昆明植物研究所中国西南野生种植资源库和天津诺禾致源公司的 Mi-Seq 和 Nova-Seq 6600 高通量测序仪进行测序。

1.3 细胞器基因组数据组装及注释

高通测序获得的原始数据直接利用 GetOrganelle 软件包（Jin et al., 2020）进行组装，并自动输出完整的环状叶绿体基因组。若未能输出环状结构，可通过 Bandage 查看，手动对剔除非目的 contigs 后的 FASTG 文件进行编辑，输出可靠的叶绿体基因组的 contigs 或 scaffolds，然后利用手动校正和拼接成完整的叶绿体基因组。叶绿体基因组的注释以发表的云南梧桐（NC_037242）为参考序列，通过 Geneious（https://www.geneious.com）进行基因组的相似性注释，并结合 ORF（Open reading frames）进行校正。

1.4 系统发育分析

叶绿体全基因组和DNA片段分别进行比对和系统发育分析，用以推断梧桐亚科与锦葵科其他亚科间以及梧桐亚科内部属间的系统发育关系。基于叶绿体基因组数据的特征，本研究构建了5个数据集矩阵进行分析：（1）叶绿体全基因组（Whole chloroplast genome，WCG）；（2）蛋白质编码区（Coding sequence, CDS）;（3）大单拷贝区（Large single copy region，LSC）；（4）小单拷贝区（Small single copy region，SSC）；（5）反向重复区（Inverted repeat region，IR）。为了减少重复序列的影响，全基因组数据集去除了一个IR区，CDS数据集中所有基因都是唯一的。CDS基因利用Geneious软件基于基因注释信息进行提取，并使用Geneious的Mafft Multiple Aligenment插件对每个基因进行单独比对，再通过concantenate_fasta.py（https://github.com/Kinggerm/PersonalUtilities）将CDS基因串联起来，用于矩阵的构建。数据矩阵和注释质体基因组序列已上传到Figshare共享平台（https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14308682）。

所有用于系统发育的叶绿体基因片段或全基因组（仅保留一个 IR）数据矩阵，均先使用 MAFFT Online version（https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/）进行矩阵比对。比对结果于 Geneious（Kaerse et al., 2012）进行查看，如有需要则对其进行手动调整和校正，之后再用于系统发育分析。系统发育树的构建于 CIPRES 平台（http://www.phylo.org）上进行。所有数据集均采取最大似然法（Maximum Likelihood，ML），选用 RAxML 8.2.12 工具，选择了 GTRCATI 模型，并设置 1 000 次靴带值估算分枝的支持率（Bootstrap support value, BS）。此外，叶绿体全基因组（WCG）、CDS 数据集及用于推断可乐果属分支系统发育关系的叶绿体基因片段还进行了贝叶斯分析（Bayesian Inference，BI）。贝叶斯分析于 CIPRES 平台（Miller et al., 2010）的 Mrbayes 3.2.7a 进行，最佳替代模型依据贝叶斯信息准则（Bayesian information criterion），通过 jModeltest2 2.1.6（Darriba et al., 2012）来确定。四条马尔科夫-蒙特卡洛链（Markov Chain Monte Carlo）运行了 20 或 50 万代，每 100 代取样一次，前 25%的树将作为老化树被丢弃。

2 结果与分析

2.1 叶绿体基因组特征

锦葵科 29 个新叶绿体基因组都是呈现典型的四分体结构，即包含一个大单拷贝区和一

个小单拷贝区，并由两个反向重复区将其分隔开来。锦葵科植物基因组的大小在 159 093 bp（*Sparrmannia* sp.）~165 106 bp（*Helicteres isora*）范围内变动。基因组各部分大小范围如下：LSC 区 88 380~90 064 bp；SSC 区 19 640~20 774 bp；IR 区 25 233~26 784 bp（表 2）。

锦葵科植物叶绿体基因组在基因数量及顺序上较为保守，其 GC 含量也未表现出明显的差异。锦葵科叶绿体基因组包含 113 ~ 114 个不重复基因，由 79~80 个编码基因（仅 *Guazuma ulmifolia* 和 *Helicteres isora* 丢失 *inf*A 基因）、30 个 tRNA 基因和 4 个 rRNA 基因组成。基因组 GC 含量范围为 36.5% ~ 37.1%，其中 LSC 区 GC 含量范围为 34.3% ~ 35.0%，SSC 区 GC 含量范围为 30.5% ~ 37.1%，IR 区 GC 含量范围为 41.8% ~ 43.2%。

表 2 叶绿体基因组基本特征信息表

Table 2 Summary of chloroplast genome characteristics

物种名 Species	基因组大小及GC含量 Size（bp）and GC content（%）				基因数目 Numbers of genes			
	基因组 Genome	LSC区 LSC region	SSC区 SSC region	IR区 IR region	基因 Genes	编码基因 Protein encoding	tRNA	rRNA
昂天莲 *Ambroma augustum*	161 199 (36.9)	90 064 (34.6)	20 043 (31.4)	25 546 (43.0)	114	80	30	4
杨叶酒瓶树 *Brachychiton populneus*	160 637 (37.1)	89 533 (34.9)	19 982 (31.5)	25 561 (43.0)	114	80	30	4
美丽异木棉 *Ceiba speciosa*	160 414 (36.8)	89 358 (34.6)	19 948 (31.2)	25 554 (43.0)	114	80	30	4
可乐果 *Cola acuminata*	160 411 (36.8)	89 793 (34.7)	20 496 (31.0)	25 561 (43.0)	114	80	30	4
光亮可乐果 *C. nitida*	161 217 (36.9)	89 599 (34.7)	20 496 (31.0)	25 561 (43.0)	114	80	30	4
山麻树 *Commersonia bartramia*	159 781 (37.1)	89 920 (35.0)	20 131 (31.4)	25 365 (42.9)	114	80	30	4
田麻 *Corchoropsis crenata*	160 189 (36.7)	88 863 (35.0)	20 488 (30.5)	25 419 (43.1)	114	80	30	4
Dombeya sp.	161 283 (36.7)	89 955 (34.4)	20 452 (30.8)	25 438 (43.1)	114	80	30	4
火绳树 *Eriolaena spectabilis*	160 866 (36.7)	90 064 (34.3)	20 336 (30.9)	25 233 (43.2)	114	80	30	4
丹霞梧桐 *Firmiana danxiaensis*	161 255 (36.9)	90 144 (34.7)	20 067 (31.2)	25 522 (43.0)	114	80	30	4
瓜楚麻 *Guazuma ulmifolia*	160 208 (37.1)	89 139 (35.0)	20 140 (31.3)	25 489 (43.0)	113	79	30	4
火索麻 *Helicteres isora*	165 106 (36.5)	89 139 (34.5)	19 831 (31.7)	26 784 (41.8)	113	79	30	4
鹧鸪麻 *Kleinhovia hospita*	160 585 (36.9)	89 076 (34.8)	20 183 (31.1)	25 663 (42.9)	114	80	30	4
Melochia villosa	159 452 (37.4)	88 470 (35.3)	19 847 (31.9)	25 554 (43.1)	114	80	30	4
Nesogordonia sp.	159 953 (37.0)	89 559 (34.7)	19 914 (31.9)	25 240 (43.2)	114	80	30	4
平当树 *Paradombeya sinensis*	160 790 (36.9)	89 637 (34.7)	20 393 (31.2)	25 380 (43.1)	114	80	30	4
Pterocymbium javanicum	160 610 (36.9)	89 221 (34.8)	20 323 (31.1)	25 533 (42.9)	114	80	30	4
P. tinctorium	160 675 (36.9)	89 292 (34.7)	20 327 (31.1)	25 528 (42.9)	114	80	30	4
Pterocymbium sp.	160 761 (36.9)	89 285 (34.8)	20 324 (31.1)	25 551 (42.9)	114	80	30	4
胖大海 *Scaphium macropodum*	161 335 (36.8)	90 021 (34.7)	20 378 (31.2)	25 468 (43.0)	114	80	30	4

红胖大海 *Scaphium lychnophorum*	160,899 (36.9)	89,984 (34.7)	19,911 (31.3)	25,502 (43.0)	114	80	30	4
Sparrmannia sp.	159,093 (37.1)	88,380 (35.0)	19,717 (31.3)	25,498 (43.0)	114	80	30	4
短柄苹婆 *Sterculia brevissima*	160,349 (37.0)	89,419 (34.8)	19,656 (31.7)	25,537 (42.8)	114	80	30	4
假苹婆 *S. lanceolate*	160,289 (37.0)	89,357 (34.8)	19,640 (31.7)	25,646 (42.7)	114	80	30	4
S. nobilis	161,176 (36.9)	89,585 (34.8)	20,339 (31.5)	25,626 (42.8)	114	80	30	4
家麻树 *S. pexa*	160,970 (37.1)	89,696 (35.0)	20,266 (31.5)	25,504 (43.0)	114	80	30	4
基苹婆 *S. principis*	160,602 (37.0)	89,307 (34.9)	20,439 (31.4)	25,428 (42.9)	114	80	30	4
绒毛苹婆 *S. villosa*	161,585 (37.0)	89,831 (34.9)	20,774 (31.1)	25,490 (43.1)	114	80	30	4

表 3 原梧桐科中主要属的系统分类变动总览

Table 3 Taxonomic overview of select genera in traditional Sterculiaceae

属名	徐颂军和徐祥浩，2012	Takhtajan，2009	Bayer & Kubitzki，2003
Acropogon	苹婆族 Sterculieae	苹婆族 Sterculieae	梧桐亚科 Sterculioideae
昂天莲属 *Ambroma**	可可族 Theobromeae	可可族 Theobromeae	刺果藤亚科 Byttnerioideae
Argyrodendron	-	-	*Heritiera* 异名
酒瓶树属 *Brachychiton**	苹婆族 Sterculieae	苹婆族 Sterculieae	梧桐亚科 Sterculioideae
刺果藤属 *Byttneria**	刺果藤族 Byttnerieae	刺果藤族 Byttnerieae	刺果藤亚科 Byttnerioideae
可乐果属 *Cola**	苹婆族 Sterculieae	苹婆族 Sterculieae	梧桐亚科 Sterculioideae
山麻树属 *Commersonia**	刺果藤族 Byttnerieae	刺果藤族 Byttnerieae	刺果藤亚科 Byttnerioideae
田麻属 *Corchoropsis**	非洲芙蓉族 Dombeyeae	-	非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae
非洲芙蓉属 *Dombeya**	非洲芙蓉族 Dombeyeae	非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae	非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae
火绳树属 *Eriolaena**	火绳树族 Eriolaenea	火绳树族 Eriolaenea	非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae
梧桐属 *Firmiana**	苹婆族 Sterculieae	苹婆族 Sterculieae	梧桐亚科 Sterculioideae
Franciscodendron	-	-	梧桐亚科 Sterculioideae
瓜楚麻属 *Guazuma**	可可族 Theobromeae	可可族 Theobromeae	刺果藤亚科 Byttnerioideae
山芝麻属 *Helicteres**	山芝麻族 Helictereteae	山芝麻族 Helictereteae	山芝麻亚科 Helicteroideae
银叶树属 *Heritiera**	蝴蝶树族 Tarrietieae	蝴蝶树族 Tarrietieae	梧桐亚科 Sterculioideae
猴可可属 *Herrania**	可可族 Theobromeae	可可族 Theobromeae	刺果藤亚科 Byttnerioideae
闭果桐属 *Hildegardia*	蝴蝶树族 Tarrietieae	Mansonieae 族	梧桐亚科 Sterculioideae
鹧鸪麻属 *Kleinhovia**	山芝麻族 Helictereteae	山芝麻族 Helictereteae	刺果藤亚科 Byttnerioideae
梅蓝属 *Melhania**	非洲芙蓉族 Dombeyeae	非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae	非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae
马松子属 *Melochia**	Hermannieae 族	Hermannieae 族	刺果藤亚科 Byttnerioideae
岛茶檀属 *Nesogordonia**	Helmiopsideae 族	Helmiopsideae 族	非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae
八裂桐属 *Octolobus*	苹婆族 Sterculieae	苹婆族 Sterculieae	梧桐亚科 Sterculioideae
平当树属 *Paradombeya**	非洲芙蓉族 Dombeyeae	非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae	非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae
舟翅桐属 *Pterocymbium**	苹婆族 Sterculieae	苹婆族 Sterculieae	梧桐亚科 Sterculioideae
翅子树属 *Pterospermum**	翅子树族 Peterospermeae	山芝麻族 Helictereteae	非洲芙蓉亚科 Dombeyoideae
翅苹婆属 *Pterygota*	苹婆族 Sterculieae	苹婆族 Sterculieae	梧桐亚科 Sterculioideae
梭罗属 *Reevesia**	山芝麻族 Helictereteae	山芝麻族 Helictereteae	山芝麻亚科 Helicteroideae
胖大海属 *Scaphium**	苹婆族 Sterculieae	苹婆族 Sterculieae	梧桐亚科 Sterculioideae
焰麻树属 *Seringia**	Lasiopetaleae 族	Lasiopetaleae 族	刺果藤亚科 Byttnerioideae
苹婆属 *Sterculia**	苹婆族 Sterculieae	苹婆族 Sterculieae	梧桐亚科 Sterculioideae
可可属 *Theobroma**	可可族 Theobromeae	可可族 Theobromeae	刺果藤亚科 Byttnerioideae
蛇婆子属 *Waltheria**	Hermannieae 族	Hermannieae 族	刺果藤亚科 Byttnerioideae

注：带*的表示该属包含在叶绿体基因组取样中。

Note： * indicates that the genus was include in chloroplast sampling.

2.2 系统发育分析

2.2.1 矩阵特征

本研究基于叶绿体基因组数据划分了 5 个数据集，由此所构建的矩阵特征如下：WCG 数据构建的矩阵长度为 177 659 bp，包含 45 961 个变异位点（Variable site）和 21 198 个简约信号位点（Parsimony-informative site）。CDS 数据集构建的矩阵长度为 74 576 bp，包含 15 304 个变异位点和 7 040 个简约信号位点。LSC 数据集所构建的矩阵长度为 123 778 bp，包含 34 899 个变异位点，16 033 个简约信号位点。SSC 数据集所构建的矩阵长度为 27 633 bp，包含变异位点 8 975 个，简约信号位点 4 387 个。IR 数据集所构建的矩阵长度为 37 370 bp，包含变异位点 2 353 个，简约信号位点 683 个。

基于 3 个叶绿体基因片段（*ndh*F、*mat*K 和 *rbc*L）所构建的矩阵长度为 5181 bp，包含 226 个变异位点，91 个简约信号位点。

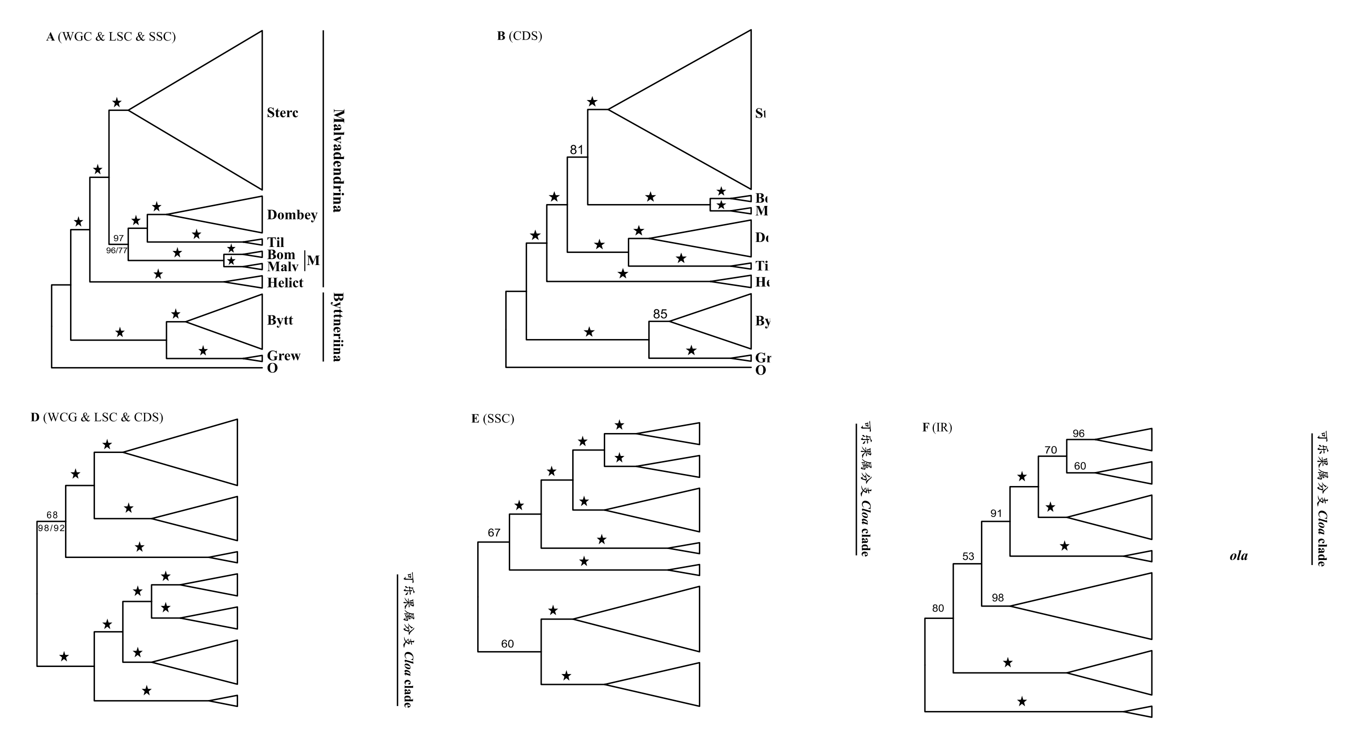
2.2.2 基于叶绿体基因组的系统发育分析

以红木（*Bixa orellana*）作为外类群，基于叶绿体基因组各数据集，采用最大似然法分别构建相应的 ML 树，系统发育结果如图 1 所示。在基于不同数据集构建的 ML 树中，WCG 和 LSC 数据集的 ML 树拓扑结构完全一致。SSC 数据集的 ML 树在亚科关系上与 WCG、LSC 数据集表现一致，但在梧桐亚科内部存在一些差异；基于 CDS 数据集构建的 ML 树在亚科关系上与前三个数据集有所不同，但在梧桐亚科内部与 WCG、LSC 数据集呈现一致。IR 数据集构建的 ML 树所呈现的拓扑结构无论是在亚科位置，还是梧桐亚科内部属间关系上均与 WCG、LSC 数据集的存在差异。

锦葵科 8 个亚科的单系性得到了除 IR 数据集以外其他四个数据集的支持，同时 Byttneriina 和 Malvadendrina 两大分支，锦葵亚科和木棉亚科的姐妹关系（即 Malvatheca 分支）都得到了所有数据集的强烈支持。在 IR 数据集构建的 ML 树中，榴梿（*Durio zibethinus*）并未置于山芝麻亚科，而是作为 Malvadendrina 分支其他属的姐妹群，随后为山芝麻亚科的其他属，但支持率较弱（Bootstrap, BS = 38%）；除此以外，其拓扑结构与 WCG 数据集的 ML 树一致，但大部分节点支持率偏低。非 IR 数据集中，在 Malvadendrina 分支内部，山芝麻亚科置于基部，为分支内余下亚科的姐妹群；椴树亚科和非洲芙蓉亚科互为姐妹关系。但是，梧桐亚科、Malvatheca 分支，以及椴树亚科-非洲芙蓉亚科分支间的位置关系在不同数据集中存在分歧。WCG、LSC 和 SSC 数据集的 ML 树均显示 Malvatheca 分支与椴树亚科-非洲芙蓉亚科分支聚在一起（BS_{WCG}=97, BS_{LSC}=96, BS_{SSC}=77，而在 CDS 数据建的 ML 树上 Malvatheca 与梧桐亚科的关系更近（BS=81%）。

原梧桐科的属被分散到锦葵科的四个亚科中，梧桐亚科的成员主要来自原苹婆族和蝴蝶树族，其余属则被分到刺果藤亚科、非洲芙蓉亚科和山芝麻亚科中（见表 4）。在梧桐亚科内部，各属的不同样本均很好地各自聚成单系，可识别到四个分支，分支名称沿用 Wilkie et al. (2006) 的命名，即可乐果属（*Cola* Schott & Endl.）、梧桐属（*Firmiana* Marsili）、胖大海属（*Scaphium* Schott & Endl.）及舟翅桐属（*Pterocymbium* R. Br.）组成可乐果属分支；酒瓶树属（*Brachychiton* Schott & Endl.）、银叶树属（*Heritiera*）及苹婆属（*Sterculia* L.）三属各自形成单独的分支。在可乐果属分支内，可乐果属为其他属的姐妹群，随后是梧桐属和胖大海属-舟翅桐属的姐妹关系。苹婆属与银叶树属的姐妹关系在 WCG、LSC 区及 CDS 构建的 ML 树上得到高度支持，但在 SSC 区构建的 ML 树上的支持率较弱；酒瓶树属的位置在各 ML 树中呈现不一致（图 1）。

BI 分析构建的系统发育树在结构上与 ML 分析所产生的系统发育树的拓扑结构一致。较 ML 分析而言，基于 WCG 数据集构建的 BI 树，进一步地支持了 Malvatheca 分支与椴树亚科-非洲芙蓉亚科的近缘关系（图 2）。与之相反的是，基于 CDS 数据集构建的 BI 树在 Malvatheca 与梧桐亚科组成的分支节点的支持率降低（Posterior probability, PP=0.71）。



Sterc. 梧桐亚科; Dombey. 非洲芙蓉亚科; Til. 椴树亚科; Bom. 木棉亚科; Malv. 锦葵亚科; M. Malvatheca; Helict. 山芝麻亚科; Bytt. 刺果藤亚科; Grew. 扁担杆亚科; O. 外类群。

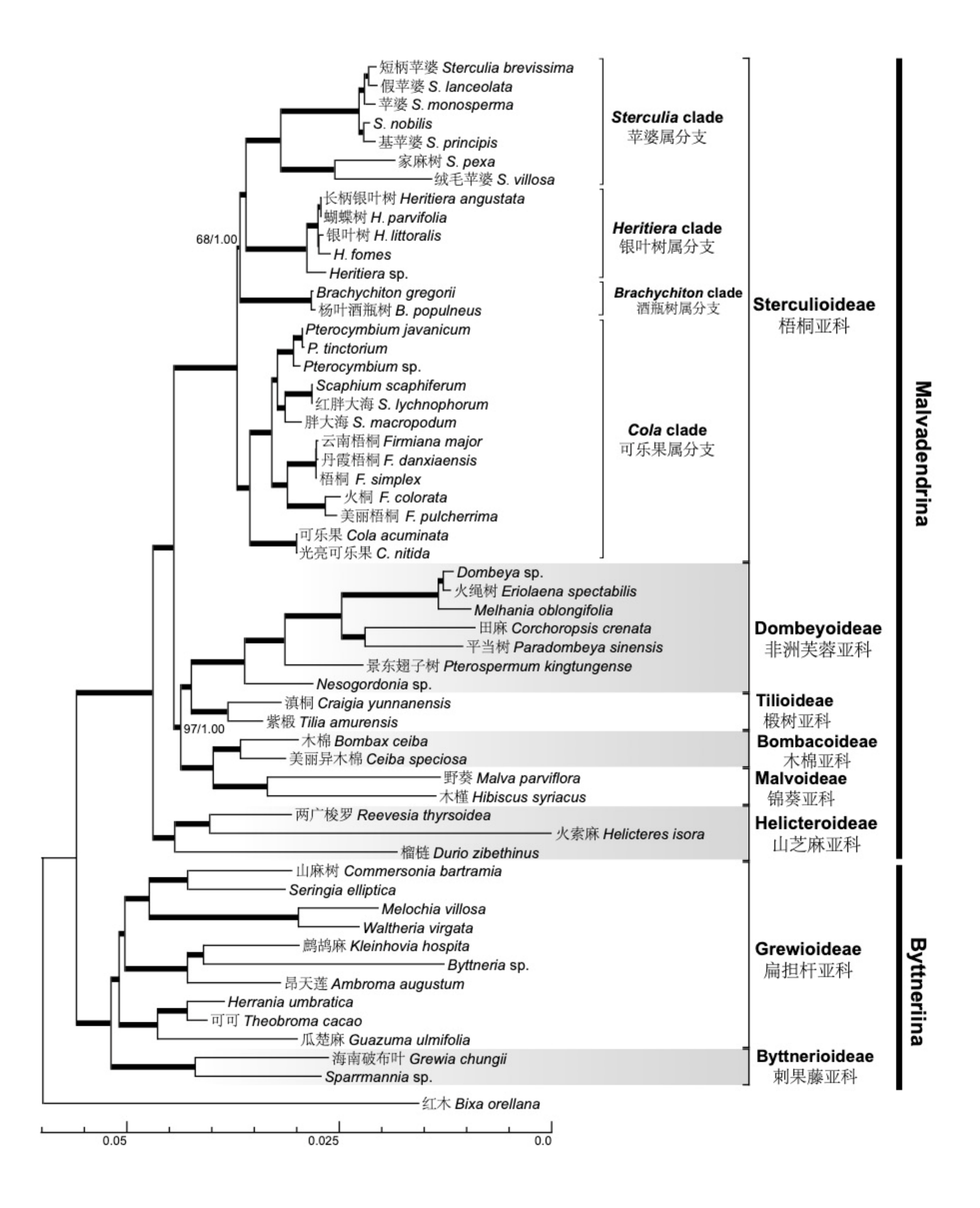
Sterc. Sterculioideae; Dombey. Dombeyoideae; Til. Tilioideae; Bom. Bombacoideae; Malv. Malvoideae, M. Malvatheca; Helict. Helicteroide; Bytt. Byttnerioideae; Grew. Grewioideae; O. Outgroup.

注：★表示 bootstrap 值为 100%。在 A、D 中，WCG 的 bootstrap 值标注上方，LSC/SSC(CDS)的标在下方。

Note: ★ indicates 100% bootstrap value. In (A) & (D), numbers above the branches represent bootstrap support value as revealed with WCG, numbers below branches indicate bootstrap support value of LSC/SSC(CDS).

图 1 基于不同数据集构建的锦葵科（A-C）及梧桐亚科（D-F）最大似然系统发育树

Fig. 1 Maximum likelihood phylogenetic tree of Malvaceae(A-C) and Sterculioideae(D-F) based on different data set



注：仅显示主要节点支持率，数字表示分支的最大似然的 bootstrap 值/贝叶斯后验概率，未标注的分支支持率为 100% /1.0。

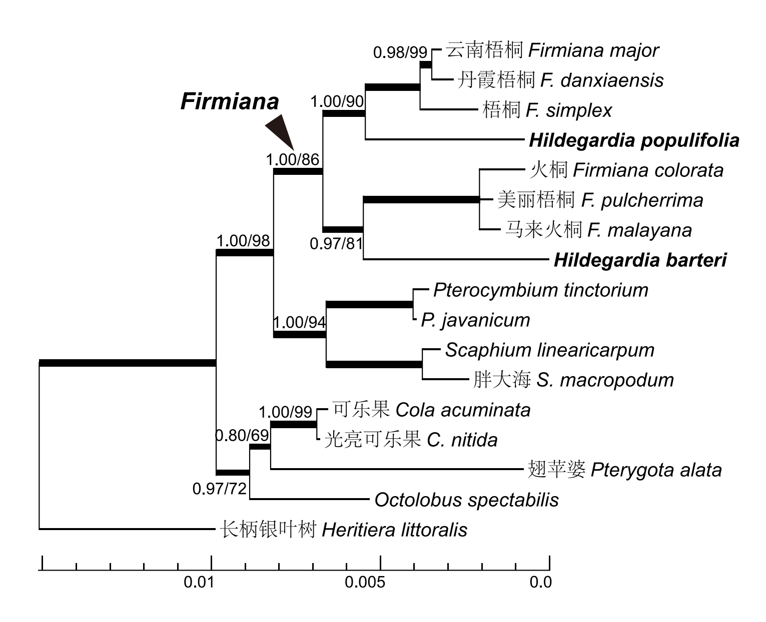
Note: Only major node support value is shown. The labels indicate maximum likelihood bootstrap support/ Bayesian posterior probabilities. Unlabeled branches have 100% /1.0 support value.

图 2 基于 WCG 数据集构建的 BI 树

Fig. 2 Bayesian phylogenetic tree of Malvaceae estimated with WCG data set.

2.2.3 基于叶绿体片段序列的系统发育分析

为了进一步探究梧桐属和闭果桐属的界限与关系，我们基于叶绿体基因 *ndh*F、*mat*K 和 *rbc*L 联合矩阵构建 ML 树和 BI 树，重建可乐果属分支的系统发育关系（图 3）。增加了 *mat*K 和 *rbc*L 片段的矩阵，明显提高了部分节点的支持率，并依然支持梧桐属是一个并系类群，即来自闭果桐属的 *Hildegardia barteri* 与火桐（*Firmiana colorata*）、马来火桐（*F. malayana*）及美丽梧桐（*F. pulcherrima*）聚为一支（BS=90%, PP=1.00），而 *Hildegardia populifolia* 与梧桐（*Firmiana simplex*）、丹霞梧桐（*F. danxiaensis*）以及云南梧桐（*F. major*）组成另一支（BS=97%, PP=1.00）。



注：数字表示分支的最大似然的 bootstrap 值/贝叶斯后验概率，未标注的分支支持率为 1.0/100%。

Note: The labels indicate maximum likelihood bootstrap support/ Bayesian posterior probabilities. Unlabeled branches have 1.0/100% support value.

图 3 用贝叶斯分析推断的可乐果属分支（*Cola* clade）系统发育关系

Fig. 3 Phylogeny relationship of *Cola* clade inferring by Bayesian analysis

3 讨论与结论

3.1 锦葵科亚科间系统发育关系

本研究基于叶绿体基因组数据，用不同的数据集分别采用最大似然法和贝叶斯分析进行系统发育分析，在亚科水平上提供了对锦葵科系统发育关系更好的理解。系统发育分析结果表明，锦葵科 8 个亚科均为单系（IR 数据集除外），亚科间分为 Byttnerrina 和 Malvadendrina 两大分支，在 Malvadendrina 分支内锦葵亚科与木棉亚科组成 Malvatheca 分支。这些关系与先前的研究一致（Bayer et al., 1999; Alverson et al., 1999; Nyffeler et al., 2005; Hernandez-Gutierrez & Magallon, 2019），且得到了各数据集的一致支持，但亚科之间的关系在数据集间存在一定差异。

在 Malvadendrina 分支内，非 IR 数据集的构建的系统发育树都将山芝麻亚科置于该分支基部，作为其他亚科的姐妹群（BS=100%, PP=1.00）。山芝麻亚科的位置与先前基于叶绿体基因数据的系统发育分析结果一致（Conover et al., 2019; Wang et al., 2021），不过核基因数据却支持非洲芙蓉亚科在这一位置，随后才是山芝麻亚科与余下亚科的姐妹关系（Conover et al., 2019）。同样地，叶绿体基因片段 *atp*B、*mat*K 和 *ndh*F 联合分析的结果也支持非洲芙蓉亚科为 Malvadendrina 分支其他亚科的姐妹群（Nyffeler et al., 2005）。另有研究表明，非

洲芙蓉亚科处在如下位置：（1）与椴树亚科互为姐妹关系（Alverson et al., 1999; Wang et al., 2021）；（2）作为梧桐亚科-杯萼椴亚科的近缘姐妹群（Bayer et al., 1999）。其中，非洲芙蓉亚科与椴树亚科的姐妹关系得到了 *ndh*F 基因的微弱支持（BS=58%），得到了叶绿体 CDS 基因数据的强烈支持（BS=100, PP=1.00）；不过，非洲芙蓉亚科和梧桐亚科-杯萼椴亚科的亲缘关系并未得到良好地支持。在本研究中，包括 CDS 数据集在内的所有数据集都强烈支持非洲芙蓉亚科和椴树亚科的姐妹关系（BS=100%, PP=1.00）。此外，在本研究中 WCG 数据集的 ML 分析和 BI 分析结果均强烈支持椴树亚科-非洲芙蓉亚科和 Malvatheca 分支的姐妹关系（BS=100%, PP=1.00）。然而，在同样的分析中，CDS 数据则与之前多基因片段联合分析的结果一致（Nyffeler et al., 2005; Hernandez-Gutierrez & Magallon, 2019），表明梧桐亚科为 Malvatheca 分支的姐妹群（BS=81%, PP=0.71）。与之相反，Wang et al. (2021) 用叶绿体 CDS 基因构建的锦葵科系统发育关系却显示梧桐亚科与椴树亚科-非洲芙蓉亚科分支构成姐妹关系，这种差异可能是取样差异所造成。

在我们的分析中，WCG 和 CDS 数据集的冲突可能源于数据的进化速率不同。相对基因编码区而言，非编码区序列拥有更快的进化速率，能提供更多具系统学意义的信息位点（田欣和李德铢，2002）。同时，数据集之间的冲突，也反映出锦葵科演化历史的复杂。Malvadendrina 分支中亚科之间的茎干枝长较短，表明这些支系可能存在快速分化，适应性辐射，由此可能造成不完全谱系分选的发生（黄原，2012）。此外，该分支还存在全基因组多倍化事件，存在异源多倍体（Conover et al., 2019）。

在 IR 数据集中，榴梿为该分支其他属的姐妹群，随后是山芝麻亚科。尽管在形态上难以将山芝麻亚科的成员榴梿族（Durioneae）和狭义山芝麻亚科（Helictereteae s. str）联系起来，但是山芝麻亚科单系性一直以来都得到分子数据的良好支持（Bayer et al., 1999; Alverson et al., 1999; Nyffeler et al., 2005; Hernandez-Gutierrez & Magallon, 2019）。但在 IR 数据集中，山芝麻亚科未能形成单系，这与 Wang et al. (2021) 用 IR 区构建的系统发育树一致。IR 数据集与其他数据结果的冲突可能是由于与单拷贝区相比，IR 区的核苷酸替代速率更低（Zhu et al., 2016），提供的系统发育信息有限。

此前，Malvadendrina 分支各亚科的关系一直未能得到完全的解决，由于取样类群和数据类型的不同，亚科之间的位置关系随之变动。Alverson et al. (1999) 尝试从形态学上为这些亚科的关系提供一些参考，他们认为萼片的离生与合生以及花丝离生或合生成柱可能与亚科的关系联系起来。同时，他们指出在椴树亚科和非洲芙蓉亚科中，萼片离生仅在基部稍微连合；反之，杯萼椴亚科、山芝麻亚科、梧桐亚科及 Malvatheca 的成员萼片合生，呈管状或钟状，常浅裂。另外，雄蕊管（即花丝部分或完全合生）为 Malvatheca 分支、大部分山芝麻亚科成员，非洲芙蓉亚科及梧桐亚科所共有，可能表明了杯萼椴亚科与椴树亚科的基本位置。然而在梧桐亚科中也存在花萼分离及合生两种情况（Tang et al., 2007），这说明花萼特征可能不是椴树亚科和非洲芙蓉亚科的共享衍征。从形态上来看，梧桐亚科被认为是 Malvatheca 分支潜在的姐妹群。因为从花部形态来看，梧桐亚科的花药无柄或近无柄，这与 Malvatheca 分支中早期分化的成员的特征相同（Von Balthazar et al., 2006），且梧桐亚科和 Malvatheca 分支中的大多数属都缺少在其他亚科中显著存在的退化雄蕊（Nyffeler et al., 2005）。但是梧桐亚科与其他亚科相比有其独有的特征，即离生心皮、花常单性且无花瓣、具雌雄蕊柄等特征同时在梧桐亚科植物上出现（Bayer & Kubitzki, 2003; 李德铢等，2020）。山芝麻亚科的单系性一直以来都得到分子数据的良好支持，但是在形态上难以将狭义山芝麻亚科和榴梿族联系起来，例如雌雄蕊柄是狭义山芝麻亚科最显著的花部结构，却在榴梿族中缺失（Alverson et al., 1999; Nyffeler et al., 2005）。目前，已有的研究尚不足以在形态上解释本研究中所展示的 Malvadendrina 分支各亚科的系统发育关系，仍有待进一步研究。

3.2 梧桐亚科属间系统发育关系

传统的梧桐科是一个多型的科，包含极为丰富的花部形态和果实类型，为了更好地理解梧桐科植物之间的关系，分类学家们依据形态学、孢粉学、解剖学等特征将梧桐科植物划分了亚科或（和）族（Cronquist & Takhtajan, 1992; Takhtajan, 2009; 徐颂军和徐祥浩, 2012）。然而对于梧桐科所包含的范围和属种数目，不同学者看法不一。据 Takhtajan (2009) 的统计全世界有梧桐科植物 62 属 1500 种，而徐颂军和徐祥浩（2012）则认为梧桐科有 60 属 1548 种。分子系统学证据表明传统梧桐科是一个多系，随后将梧桐科与锦葵科、木棉科及椴树科合并为广义锦葵科，并将其内部划分为 9 个亚科，而传统的梧桐科被划分到 5 个亚科之中（Bayer et al., 1999; Alverson et al., 1999）。其中，梧桐亚科仅保留了原来苹婆族和蝴蝶树族的属，其单系性得到了形态和分子证据的较好支持（Bayer & Kubitzki, 2003; Wilkie et al., 2006）。然而基于叶绿体片段的系统发育分析，不足以提供足够的分辨率以解决梧桐亚科内部属间的系统发育关系。本研究基于叶绿体基因组重建了梧桐亚科属间系统发育关系，结果与基于梧桐亚科 13 个属的叶绿体 *ndh*F 基因进行的系统发育分析结果一致（Wilkie et al., 2006），均在梧桐亚科内部识别到四个分支。与之相比，本研究的分析结果进一步支持可乐果属为其他属的姐妹群以及梧桐属和舟翅桐-胖大海属的姐妹关系。此外，苹婆属分支和银叶树属分支的姐妹关系也得到了各数据集（除 IR 数据集外）的强烈支持。而酒瓶树属分支有如下 3 个位置：（1）为苹婆属-银叶树属的姐妹群（BS_{WCG}=68%, BS_{LSC}=98%, BS_{CDS}=92%）；（2） 为可乐果属分支（*Cola* clade）的姐妹群（BS_{SSC}=60%）；（3）为梧桐亚科余下属的姐妹群（BS_{IR}=90%）。酒瓶树属位置在 IR 区和 SSC 区构建的系统发育树中发生变动，可能的原因是 IR 区和 SSC 区较短，包含的变异位点较少。

3.3 梧桐属的范围与界定

在梧桐属内部，一类是花于叶前开放，花萼 5 浅裂，萼筒远长于裂片，如火桐、广西火桐等；另一类则花叶同放，花萼 5 裂至近基部，如梧桐、丹霞梧桐等（Tang et al., 2007）。因此，Ridley (1934) 主张将与火桐开花习性与花部形态特一致的几个种从梧桐属中分出，独立为火桐属（*Erythropsis* Lindley ex Schott & Endlicher）。同时，蓇葖果中种子的数量也作为划分两属的依据，Ridley 指出火桐属每蓇葖果含种子 2 枚，而梧桐属每蓇葖果具种子 4 枚。这一观点得到了徐颂军和徐祥浩（2012）的认同，且凡强等（2011）基于 ITS 序列进行的系统发育分析也为这一处理提供了分子证据。然而 Kostermans (1954, 1957) 却指出花萼筒长度变异的现象普遍存在于梧桐科（Sterculiaceae）多个属中，而每蓇葖果种子数的不同则体现了种间差异，而非属间差异；因而不赞成将梧桐属分为两属。在 *Flora of China*（Tang et al., 2007）及《中国维管植物科属志》（李德铢等，2020）中均未将火桐属从梧桐属中分出。

值得一提的是，中国境内的新记录种克氏梧桐（*Firmiana kerrii*）及新发表的大围山梧桐（*Firmiana daweishanensis* Gui L. Zhang & J. Y. Xiang）的花在展叶前开放，萼片深裂近基部（王文广等，2019; Zhang et al., 2020），兼具火桐的开花习性与梧桐的花部特征，处在二者的过渡状态。由此可见，开花习性及形态的差异不足以作为分属的依据。这种差异可能是由于快速分化造成的，可考虑与地理分布等信息结合起来，进一步探究梧桐属的物种形成问题。另外，与仅使用 *ndh*F 基因进行最大似然法分析的结果一致（Wilkie et al., 2006），我们使用 *ndh*F、*mat*K 和 *rbc*L 联合矩阵构建的系统发育树中也显示梧桐属与闭果桐属的样本未能各自形成单系。来自闭果桐属物种，*Hildegardia barteri* 和同样具有管状花萼的火桐等聚为一支，而花萼深裂至近基部的 *H. populifolia* 则和梧桐等分在一支。Kostermans (1954) 曾依据蓇葖果的开裂与否作为两属划分的依据，但是显然分子证据并不支持这样的分类界定。因此，基于开花习性，花的形态特征差异，以及蓇葖果的开裂与否划分狭义梧桐属、火桐属和闭果桐属并没有系统发育证据的支持，因此，现采用的梧桐属定义包括火桐属和闭果桐属物种在内。

3.4 梧桐属研究展望

根据最新的资料，我国有广义梧桐属植物 10 种，多半是中国特有种（Tang et al., 2007; 王文广等，2019; Zhang et al., 2020）。除梧桐在园林中广泛栽培外，大多种均分布狭窄，甚至处于濒危状态。如丹霞梧桐仅在广东省仁化县及南雄市的丹霞地貌及英德的石灰岩山体上发现（缪绅裕等，2020）；大围山梧桐仅在云南大围山地区分布（Zhang et al., 2020）。早在 1999 年颁布的《国家重点保护野生植物名录（第一批）》中，丹霞梧桐、海南梧桐及广西火桐就被评为国家二级保护植物，而云南梧桐因于 1998 年被《IUCN 濒危物种红色名录》认定野外灭绝未被收录。后来云南梧桐在金沙江流域被重新发现，但总数不超过 4 000 株，且暴露于人类的干扰之中，仍具有高度的灭绝风险（王大绍, 2001; Li et al., 2020）。名录近二十年未有更新，直至 2018 年国家林业和草原农业农村部才启动了重点保护名录的调整和修订工作，并于 2020 年共同形成了《国家重点保护野生植物名录（征求意见稿）》。在该名录中，梧桐属（除梧桐外）所有种均被列为国家二级保护植物。目前（截至收稿）正式版尚未颁布，但其关于梧桐属植物保护等级的调整和修订，足以反映出梧桐属植物保护的迫切性与重要性。

梧桐属植物数量较少，对环境的反应较为敏感，更容易丧失遗传多样性，灭绝风险极高，对梧桐属植物的保护刻不容缓。虽然闭果桐属物种我国不产，但从文献和标本记录来看很多物种分布区非常狭窄，同样急需保护（Zaborsky, 2009; Rao et al., 2011；Darbyshire & Rokni 2020；）。本研究中获取的闭果桐属物种只是基于 NCBI 上两个物种的序列，未能很好的澄清闭果桐属与狭义梧桐属和火桐属关系。同时，本研究中梧桐属物种取样不足，内部种间的关系也没有厘清。在未来的研究中，需要获取更多的样本，使用信息更为丰富的基因组数据来对广义梧桐属的关系做进一步探究，同时从更广泛的物种和居群取样探讨梧桐属的物种演化关系，以便更好地解析梧桐属物种多样化的形成机制。

致谢：本研究得到了中国西南野生生物种质资源库大科学工程项目，国家重要野生植物种质资源库，中国科学院西双版纳热带植物园园林园艺部及公共技术服务中心超算平台的支持。感谢中国科学院西双版纳热带植物园林露湘老师、谭运洪老师、丁洪波老师，中国科学院植物研究所刘冰老师为本研究提供材料。

参考文献

ALVERSON WS, WHITLOCK BA, NYFFELER R, et al., 1999. Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndh*F sequence data [J]. Amer J Bot, 86: 1474-1486.

BAUM DA, ALVERSON WS, NYFFELER R, 1998. A durian by any other name: taxonomy and nomenclature of the core Malvales [J]. Harv Pap Bot: 315-330.

BAUM DA, DEWITT SMITH S, YEN A, et al., 2004. Phylogenetic relationships of Malvatheca (Bombacoideae and Malvoideae; Malvaceae sensu lato) as inferred from plastid DNA sequences [J]. Amer J Bot, 91: 1863-1871.

BAYER C, FAY MF, DE BRUIJN AY, et al., 1999. Support for an expanded family concept of Malvaceae within a recircumscribed order Malvales: A combined analysis of plastid *atp*B and *rbc*L DNA sequences [J]. Bot J Linn Soc, 129: 267-303.

BAYER C, KUBITZKI K Malvaceae[M]. Flowering plants· dicotyledons. Springer, 2003: 225-311.

CONOVER JL, KARIMI N, STENZ N, et al., 2019. A Malvaceae mystery: A mallow maelstrom of genome multiplications and maybe misleading methods? [J]. J Integr Plant Biol, 61: 12-31.

CRONQUIST A, TAKHTAJAN AL,1992. An integrated system of classification of flowering plants [M]. New York: Columbia University Press: 341-361.

DARBYSHIRE I, ROKNI S, 2020. *Hildegardia migeodii* [J]. The IUCN red list of threatened

species, 2020: e.T149258241A153685973.

DARRIBA D, TABOADA GL, DOALLO R, et al., 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing [J]. Nat Methods, 9: 772.

DOYLE JJ, DOYLE JL, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. Phytochemistry, 19: 11-15.

FAN Q, GUO W, CHEN SF, et al., 2011. Phylogeny of *Firmiana* (Sterculiaceae) based on nr DNA ITS analysis[C]. The 2011 National Symposium on Plant Systematics and Evolution & the 10th Youth Academic Seminar in China, Kunming: 61. [凡强，郭微，陈素芳，等, 2011. 基于 nrDNA ITS 序列探讨梧桐属的系统发育[C]. 后植物志时代的系统与进化植物学—2011 年全国系统与进化植物学暨第十届青年学术研讨会, 昆明: 61.]

HERNANDEZ-GUTIERREZ R, MAGALLON S, 2019. The timing of Malvales evolution: Incorporating its extensive fossil record to inform about lineage diversification [J]. Mol Phylogene Evol, 140: 106606.

HUANG Y,2012. Molecular Phylogenetics [M]. Beijing: Science Press: 444-449. [黄原，2012. 分子系统发生学 [M]. 北京: 科学出版社: 444-449.]

JIN J-J, YU W-B, YANG J-B, et al., 2020. GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate de novo assembly of organelle genomes [J]. Genome Biol, 21: 241.

KEARSE M, MOIR R, WILSON A, et al., 2012. Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data [J]. Bioinforma tics, 28: 1647-1649.

KOSTERMANS AJ, 1954. A note on some African Sterculiaceae [J]. Bull Jard Bot État: 335-338.

KOSTERMANS AJGH, 1957. The genus *Firmiana* Marsili (Sterculiaceae) [J]. Reinwardtia, 4: 281-310.

LI C, CHEN Y, YANG F, et al., 2020. Population structure and regeneration dynamics of *Firmiana major*, a dominant but endangered tree species [J]. For Ecol Manage, 462: 117993.

LI DZ, CHEN ZD, LU AM, et al., 2020. The families and genera of Chinese vascular plants Vol. Ⅱ[M]. Beijing: Science Press, 1364-1394. [李德铢，陈之端，路安民，等, 2020. 中国维管植物科属志（中卷）[M]. 北京: 科学出版社: 1364-1394.]

MILLER MA, PFEIFFER WT, SCHWARTZ T, 2010. Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees [C]// Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 2010. IEEE Computer Society, 2010.

MIU YS, HUANG HZ, LI YQ, et al., 2020. Resource survey and protection of the key national protected species *Firmiana danxiaensis* endemic to Guangdong, China [J]. Subtrop Plant Sci, 49: 71-75. [缪绅裕，黄华章，李远球，等, 2020. 广东特有国家保护植物丹霞梧桐资源调查与保护研究 [J]. 亚热带植物科学, 49: 71-75.]

NYFFELER R, BAYER C, ALVERSON WS, et al., 2005. Phylogenetic analysis of the Malvadendrina clade (Malvaceae s.l.) based on plastid DNA sequences [J]. Org Divers Evol, 5: 109-123.

RAO BRP, BABU MVS, REDDY AM, et al., 2011. Conservation status of *Hildegardia populifolia* (Roxb.) Schott & Endl. (Malvaceae: Sterculioideae: Sterculieae), an endemic of southern peninsular India [J]. J Threat Taxa: 2018-2022.

RIDLEY H, 1934. *Firmiana* and *Erythropsis* [J]. Bull Misc Inf, Kew, 1934: 214-217.

TAKHTAJAN A,2009. Flowering plants [M]. Springer Science & Business Media: 269-278.

TANG Y, MICHAEL GG, LAURENCE JD, 2007. Flora of China Vol. 12 [M]. *In:* WU ZY,

RAVEN PH, HONG DY(Eds.). Beijing: Science Press & St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 310-312.

TIAN X, LI DZ, 2002. Application of DNA sequences in plant phylogenetic study [J]. Acta Bot Yunnan: 170-184. [田欣，李德铢, 2002. DNA 序列在植物系统学研究中的应用 [J]. 云南植物研究: 170-184.]

VON BALTHAZAR M, SCHÖNENBERGER J, ALVERSON W, et al., 2006. Structure and evolution of the androecium in the Malvatheca clade (Malvaceae s.l.) and implications for Malvaceae and Malvales [J]. Plant Syst Evol, 260: 171-197.

WANG DS, 2001. Discovery of a wild population of *Firminia major* in Panzhihua city, Sichuan Province [J]. Plant 03: 4-5. [王大绍, 2001. 攀枝花发现云南梧桐天然林 [J]. 植物杂志, 03: 4-5.]

WANG JH, MOORE MJ, WANG H, et al., 2021. Plastome evolution and phylogenetic relationships among Malvaceae subfamilies [J]. Gene, 765: 145103.

WANG WG, MA XD, YAN CL, et al., 2019. *Frimiana kerrii* (Craib) Kosterm., a newly recorded species of Malvaceae from China [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 39: 2278-2280. [王文广，马兴达，闫丽春，等, 2019. 中国锦葵科一新记录种——克氏梧桐 [J]. 西北植物学报, 39: 2278-2280.]

WILKIE P, CLARK A, PENNINGTON RT, et al., 2006. Phylogenetic relationships within the subfamily Sterculioideae (Malvaceae/Sterculiaceae-Sterculieae) using the chloroplast gene *ndh*F [J]. Syst Bot, 31: 160-170.

XU SJ, XIANG JY,2012. Study on the geographical distribution of the Sterculiaceae [M]. Beijing: Science Press: 1-10. [徐颂军，徐祥浩, 2012. 梧桐科植物地理分布研究 [M]. 北京: 科学出版社: 1-10.]

XU SJ, XU XH, 2000. Comments on the taxonomic position of some genera in Sterculiaceae [J]. J Trop Subtrop Bot, 1: 11-16. [徐颂军，徐祥浩, 2000. 梧桐科一些属的分类位置探讨 [J]. 热带亚热带植物学报, 1: 11-16.]

ZABORSKY JG, 2009. *Hildegardia dauphinensis* (Malvaceae, Sterculioideae): a new species from southeastern Madagascar [J]. Adansonia, 31: 143-148.

ZHANG GL, CAI L, DUAN JQ, et al., 2020. *Firmiana daweishanensis* sp. nov. (Malvaceae) from Southeast Yunnan, China [J]. Phytotaxa, 456: 215-218.

ZHU A, GUO W, GUPTA S, et al., 2016. Evolutionary dynamics of the plastid inverted repeat: the effects of expansion, contraction, and loss on substitution rates [J]. New Phytol, 209: 1747-1756